



TITLE:

Doxorubicin-Immersed Skeletal Muscle
Grafts Promote Peripheral Nerve
Regeneration Across a 10 - mm Defect in the
Rat Sciatic Nerve(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Takeuchi, Hisataka

CITATION:

Takeuchi, Hisataka. Doxorubicin-Immersed Skeletal Muscle Grafts Promote Peripheral Nerve Regeneration Across a 10 - mm Defect in the Rat Sciatic Nerve. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22315>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	竹 内 久 貴
論文題目	Doxorubicin-Immersed Skeletal Muscle Grafts Promote Peripheral Nerve Regeneration Across a 10-mm Defect in the Rat Sciatic Nerve (ドキシソルビン浸透前処置した筋組織グラフトはラット坐骨神経 10mm欠損モデルにて神経再生を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】 神経損傷の治療において、切断端同士を緊張なく縫合できない場合、何らかの橋渡し材料が必要となる。筋組織は、神経軸索に似た形状の基底膜管を有しているため、橋渡し材料として研究されてきた。筋組織の基底膜管内には筋形質が存在するため、再生軸索がこの基底膜管を利用するには、まず、筋形質がマクロファージなどによって除去される必要がある。より早期に筋形質を除去する目的で、筋組織に変性を加える前処置法が報告されてきた。今回、Doxorubicin(以下 Dox.)の副作用である筋障害性に注目し、これによる前処置が筋変性を誘導し、神経再生に有用であると仮説を立て、ラットの坐骨神経 10mm 欠損モデルを用いて検証を行った。</p> <p>【対象と方法】 前処置は、同一術野から採取した筋組織を Dox. 溶液に 10 分間浸透させ、生理食塩水で洗浄することで行なった。ラット坐骨神経 10mm 欠損モデルに対し、前処置なし、前処置あり、自家神経移植の 3 群を用いて検討を行った。評価時期は移植直後、移植後 1 週、移植後 8 週とした。評価項目は、(I)前処置による筋組織の組織学的検討 (H. E. 染色)、(II)移植筋組織の TUNEL 染色(apoptosis 細胞の確認)および免疫組織学的検討 (CD68 陽性細胞の集積)、(III) 電気生理学的検討、筋湿重量比および再生軸索の形態学的検討とした。</p> <p>【結果】 (I)前処置により筋繊維は腫脹し周囲との境界が不明瞭となった。(II)前処置あり群は前処置なし群より多くの TUNEL 陽性細胞を認めた。また、CD68 陽性細胞を有意に多く認めた(676 ± 115 vs 195 ± 83 cells/field)。(III)前処置あり群 vs 前処置なし群の比較では、複合筋活動電位(4.61 ± 3.08 vs 0%)、前脛骨筋湿重量比(52.2% ± 5.7 vs 35.7% ± 6.0%)、再生軸索数(7,942 ± 1,796 vs 1,763 ± 1,216)、軸索直径(3.27 ± 0.15 vs 2.56 ± 0.23 μm)において、前処置あり群において有意に優れた値を認めた。前処置あり群と神経移植群との比較では、複合筋活動電位(vs 10.04 ± 3.59%)で有意に神経移植群のほうが優れていた。</p> <p>【考察】 本研究では、神経欠損の治療において、Dox. による前処置を行った筋組織が前処置を行っていない筋組織よりも神経再生を促進することを示した。移植後1週の時点で、移植した筋組織内に、アポトーシス細胞を認め、より多くのマクロファージが集積していることが示された。Dox. の組織障害性として、筋細胞のアポトーシスを誘導することが報告されている。Dox. の前処置によりアポトーシスに至った組織に対して、マクロファージが遊走し、筋形質の貪食が促進された結果、より早期に軸索再生の足場が形成されたと考察された。また移植後8週の時点でも、再生軸索の形態学的評価や機能回復評価で優れた結果を示した。</p> <p>【結論】 ラットの坐骨神経欠損モデルにおいて、Dox. による前処置は移植後早期にマクロファージの遊走を促進し、末梢神経の再生を促進したと考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
筋組織は、末梢神経に似た形状の基底膜管を有しているため、末梢神経の橋渡し材料に適すると考えられる。筋組織内の基底膜管を軸索再生の足場として利用するためには、まず、基底膜管内の筋形質がマクロファージに貪食される必要がある。Doxorubicin(以下Dox)処置が筋実質変性を誘導し、マクロファージによる貪食を促進するため、神経再生に有用であると仮説を立て、ラットの坐骨神経 10mm 欠損モデルを用いて検証を行った。
処置として、筋組織を Dox 溶液(100 μ mol/l, 2000 μ mol/l)に 10 分間浸漬させ、生理食塩水で洗浄した。処理筋組織を神経欠損モデルに移植し、移植後 1 週及び 8 週において免疫組織学的評価、再生軸索の形態学的評価と機能評価を行い、処置なし群と比較した。
Dox 群(100 μ mol/l)では処置なし群と比較し、移植後 1 週評価では多くの TUNEL 陽性細胞と CD68 陽性細胞が検出され、移植後 8 週評価では、再生軸索数、前脛骨筋湿重量比と足部内転筋活動電位で有意に高値を示し、良好な神経再生を認めた。
以上の結果より、Dox 処置(100 μ mol/l)は、筋組織のアポトーシスを誘導し、マクロファージの集積を促進したと考察された。筋形質の貪食が促進することにより早期に軸索再生の足場が形成され、それによって末梢神経の再生を促進したと考えられた。
以上の研究は、末梢神経再生における新たな方法を示唆し、末梢神経損傷治療の進歩に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 1 月 1 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降